

Mémoire de Maîtrise en médecine 2488

Résistance aux anesthésiques locaux: à la recherche d'une mutation de canal sodique

Etudiante

Olaya Barreiros Pérez

Tuteur

Dr Marc Suter

Service d'anesthésiologie - centre d'antalgie CHUV

Expert

Dr. Christian Wider

Département des neurosciences cliniques CHUV

Lausanne, 31 décembre 2015

Table des matières

1. Introduction	3
1.1. L'anesthésie locale	3
1.2. Les canaux sodiques	4
2. Méthodologie	6
3. Expérience	8
3.1. Sensibilité mécanique	8
3.1.1 <i>Sensibilité mécanique – fine</i>	8
3.1.2 <i>Sensibilité mécanique – tacto-algique</i>	9
3.2 Sensibilité thermique	10
3.2.1 <i>Sensibilité thermique nociceptive</i>	10
3.2.2 <i>Sensibilité thermique sensitive</i>	11
4. Résultats	12
4.1 Sélection des volontaires	12
4.2 Participants aux tests	12
4.2.1 <i>SR</i>	12
4.2.2 <i>LM</i>	13
4.2.3 <i>CVS</i>	13
4.2.4 <i>OP</i>	13
4.2.5 <i>MJ</i>	13
4.2.6 <i>CB</i>	14
4.3 Résultats de l'expérience	14
4.3.1 <i>Sensibilité mécanique fine</i>	14
4.3.2 <i>Sensibilité thermique nociceptive</i>	16
4.3.3 <i>Sensibilité tacto-algique</i>	17
4.3.4 <i>Sensibilité thermique sensitive</i>	18
4.4 Test génétique	20
5. Discussion	20
6. Conclusion	22
7. Remerciements	22
8. Bibliographie	23

1. Introduction

1.1. L'anesthésie locale

Les anesthésiques locaux, comme la lidocaïne, sont énormément utilisés dans le monde que ce soit pour recoudre l'arcade sourcilière d'un enfant ou pour enlever des dents de sagesse. Ils permettent que ces gestes soient faits sans douleur pour les patients, ce qui est fort utile et agréable pour ceux-ci. L'anesthésique local va bloquer les canaux sodiques et empêche ainsi l'information nociceptive d'atteindre le SNC, comme l'a décrit C. Nau dans son article «When applied intrathecally, into the epidural space, or close to nerve trunks or endings, LAs reversibly block the generation and propagation of action potentials in the spinal cord, in spinal nerve roots or peripheral nerves and thus inhibit the sensation of pain without loss of consciousness»¹. Malheureusement, il se peut que cette molécule soit sans effet chez une frange de patients. Dans ce cas-là, nous allons augmenter la dose, par paliers, pour que l'effet soit plus important. Néanmoins, si l'anesthésie ne fait toujours pas son effet, nous pourrions être tentés de dire que le patient a une faible tolérance à la douleur par exemple alors que la raison peut être toute autre.

La lidocaïne est une molécule de la famille des amino-amides. Elle a des propriétés d'anesthésique local ainsi que d'anti-arythmique. Cette molécule existe sous différentes galéniques: injectable, crème ou encore sous forme de patch. Elle agit en se liant aux canaux sodiques dépendants du voltage (Na_v). De par son action, elle va empêcher l'ouverture de ces derniers ce qui aura pour effet de ne pas laisser le Na^+ entrer dans la cellule et déclencher le phénomène de dépolarisation. C'est la dépolarisation qui va permettre à l'influx nerveux de se propager et d'atteindre le SNC. Si on le bloque, prenons le cas d'une arcade sourcilière à recoudre, l'absence de dépolarisation créée par la lidocaïne va empêcher le stimulus nociceptif de se propager via les fibres nerveuses transmettant l'information nociceptive (fibres C et Adelta) et de rejoindre le SNC. Cela a pour conséquence que le patient ne ressent pas la douleur lors du geste médical. Si cette dernière ne peut pas se lier au canal Na_v , la dépolarisation aura lieu et le stimulus nociceptif pourra atteindre le SNC où il sera intégré et le patient ressentira à ce moment-là la douleur.

¹ Nau C, Wang G.K., Interactions of Local Anesthetics with Voltage-gated Na Channels, J Membrane Biol, 2004, 201, page

Cela pourrait être expliqué par une mutation du canal Na_v , plus particulièrement du site de liaison de la lidocaïne sur le canal. Afin de mieux pouvoir se représenter cela, je vais faire un rappel de la structure des canaux sodiques.

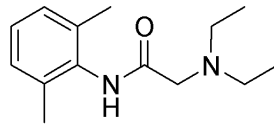


Fig. 1: Structure de la lidocaïne

1.2. Les canaux sodiques

Le corps humain possède 9 types de canaux sodiques différents dont l'architecture de base est semblable. Chaque type de canal peut être retrouvé majoritairement au niveau d'une structure anatomique, par exemple le canal $\text{Na}_v1.5$ au niveau du cœur.

	Na_v 1.1	Na_v 1.2	Na_v 1.3	Na_v 1.4	Na_v 1.5	Na_v 1.6	Na_v 1.7	Na_v 1.8	Na_v 1.9
SNC	X	X	X			X			
Muscle squelettique				X					
Cœur					X				
Neurones périphériques	X		X			X	X	X	X

Fig. 2: Répartition des canaux sodiques selon le type²

Le canal sodique est composé de trois parties que l'on nomme sous-unités. On compte une sous-unité dite alpha qui contient la structure sensible au voltage et le pore permettant aux ions sodiques de passer et deux sous-unités dites beta qui sont structurales. La sous-unité alpha se divise en quatre domaines avec chacun six segments transmembranaires. Le segment 4 est celui qui confère au canal sa dépendance au voltage. En effet, il va détecter les variations du potentiel de membrane et ouvrir le canal lorsqu'un seuil de dépolarisation est atteint, dans le cas du canal sodique aux alentours de - 50 [mV].

² http://www.uvp5.univ-paris5.fr/wikinu/docvideos/Grenoble_1011/ribuot_christophe/ribuot_christophe_p18/ribuot_christophe_p18.pdf

A partir de ce seuil, le canal aura une configuration dite "ouverte" qui va permettre l'entrée de sodium dans la cellule. Les canaux NaV ont trois configurations possibles: ouvert, fermé ou inactivé. Le passage d'une configuration à une autre dépend du potentiel de la membrane ainsi que du temps et peut être modulé par des ligands également qui viendraient s'y fixer. C'est cet effet qu'a la lidocaïne sur le canal en se liant au segment S6 comme illustré sur la figure 4. En le bloquant, elle va stabiliser le canal en configuration fermée ce qui va empêcher le passage du sodium dans la cellule et la dépolarisation ne pourra donc pas se propager le long de l'axone. L'influx nerveux nociceptif n'arrivera donc pas au SNC.

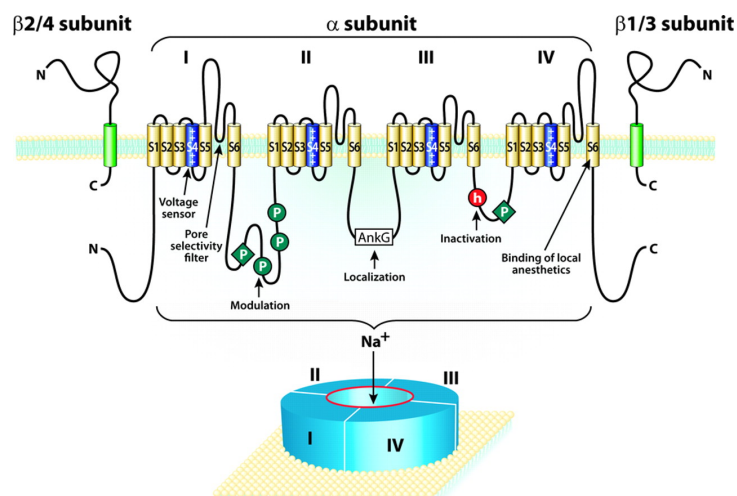


Fig. 3: Structure canal NaV³

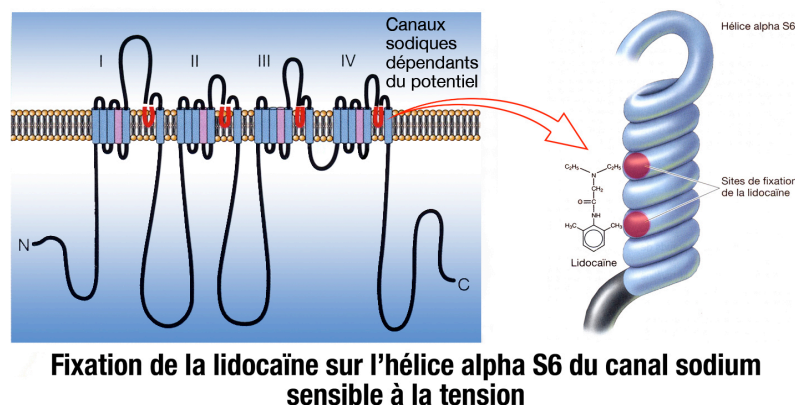


Fig. 4: Canal NaV et site de liaison de la lidocaïne⁴

Des mutations de ces canaux peuvent survenir et certaines d'entre elles ont déjà été reliées à une pathologie comme une mutation du gène SCN5A au niveau du canal NaV 1.5 qui se

³ <http://www.neurology.org/content/68/3/233/F1.large.jpg>

⁴ <https://brunoanselme.wordpress.com/2011/12/06/rage-de-dents-bouillie-de-levres-canal-sodium-et-cauchemar/>

trouve dans le coeur. Ces mutations donnent lieu à des altérations dans la conduction ventriculaire. Dans le cas où une mutation au niveau du site d'action de la lidocaïne sur le canal sodique survenait, celle-ci ne pourrait plus bloquer le canal et serait donc sans effet. L'influx nociceptif atteindrait le cerveau et donnerait l'information de douleur.

Pour ce travail, nous avons décidé de nous pencher sur les résistances aux anesthésiques locaux car nous voulons objectiver si nous pouvons corrélérer cela à une mutation de canal sodique ou non. Pour les patients chez qui l'anesthésie ne fonctionne pas, cela pourrait apporter une légitimité à leur plainte ainsi qu'une meilleure compréhension de leur situation. De plus, cela pourrait, à long terme, permettre de trouver une alternative pour les futures anesthésies locales prévues chez ces patients via d'autres procédés ou d'autres molécules.

2. Méthodologie

Ce travail s'est déroulé en trois temps. Tout d'abord, une recherche ainsi qu'une lecture d'articles, globaux puis plus précis, ont été réalisées afin de pouvoir appréhender au mieux le sujet.

Dans un second temps, des patients, pour lesquels des suspicions d'échec de bloc ont été rapportées, ont été recrutés via le service d'anesthésiologie et le service de stomatologie de la PMU. Certains cas nous étaient déjà connus, adressés en majorité par des dentistes, chez qui une recherche proactive a également été conduite après prise de contact par la SVMd. Pour sélectionner les patients les plus susceptibles de posséder la mutation recherchée, un premier contact téléphonique a été réalisé. Lors de celui-ci, des informations quant à l'épisode anesthésique ont été recueillies et ce pour pouvoir classer les patients dans deux catégories: ceux qui pourraient avoir un profil se rapprochant de celui recherché pour notre étude et ceux dont l'échec de l'anesthésie relèverait plutôt d'un problème technique lors de l'anesthésie en elle-même et moins probablement d'une mutation. Les patients ayant le profil le plus proche de celui recherché lors de notre étude ont été conviés à une consultation d'environ deux heures dans les locaux du CHUV.

Lors de cette dernière, un questionnaire d'une quarantaine de questions a été soumis aux patients afin d'en savoir plus sur leur état de santé ainsi que leurs antécédents chirurgicaux, médicaux ainsi qu'anesthésiques. Un status neurologique de base sensitivo-moteur ainsi qu'un test à l'EMLA[®] ont été réalisés.

Ce dernier a consisté en l'application sur les avant-bras, d'EMLA[®] ou d'un placebo de l'EMLA[®]. Nous n'avons pas pu obtenir de la société pharmaceutique commercialisant l'EMLA[®] la quantité exacte de chaque composant. Le placebo comporte donc les mêmes composants mais pas aux mêmes proportions. Afin d'être sûrs d'effectuer les stimuli sur les zones où les crèmes avaient été appliquées au préalable, nous avons délimité ces zones avec un stylo noir. Durant l'heure de pose des deux crèmes, nous avons réalisé l'entier du test sensoriel également sur des zones des deux avant-bras hors champ d'application des crèmes. Cela afin de pouvoir quantifier les différents seuils sur une peau dite neutre où la sensibilité n'est pas altérée par un anesthésique ou par la texture des crèmes. Une fois l'heure écoulée, nous avons répété le test sur les zones dites crémées. Nous avons appliqué des stimuli mécaniques et thermiques, via des filaments de Von Frey et une sonde chaud-froid, sur les avant-bras pour tester l'efficacité de l'EMLA[®]. Le test aux filaments de Von Frey a permis de quantifier la différence des seuils de perception des stimuli mécaniques entre l'avant-bras anesthésié et l'autre. La sonde chaud-froid a, quant à elle, permis de tester une autre fonction des nerfs sensitifs, à savoir la thermoception. Ainsi, nous avons pu constater si seule une fonction sensitive ou plusieurs sont atteintes par la probable mutation. Le test s'est déroulé en double aveugle, c'est-à-dire que ni le patient ni le testeur ne savaient de quel côté se trouvait l'EMLA[®] ainsi que le placebo et ce pour éviter les biais lors des tests.

Des facteurs d'exclusion limitant la participation à l'étude ont été définis au préalable : la grossesse, l'allaitement et un âge minimum de 18 ans. Ces facteurs ont été basés essentiellement sur les contre-indications de l'EMLA[®] recensées dans le Compendium ainsi que d'un point de vue éthique concernant la tenue d'expériences sur des mineurs.

Les résultats du test à l'EMLA[®] ont été analysés de façon comparative entre les zones crémées et neutres ainsi qu'entre les volontaires. Pour les tests évaluant les sensibilités mécanique et thermique ainsi que la nociception, nous avons réalisé plusieurs mesures afin d'en faire une moyenne.

Finalement, une prise de sang a été effectuée afin d'obtenir un échantillon sur lequel l'analyse génétique a pu être réalisée. L'analyse génétique a été réalisée par le Dr. Zahurul Bhuiyan du laboratoire de génétique médicale au CHUV. Le séquençage des exons de Nav1.7 et Nav1.8 a été effectué avec une attention particulière aux segments S6. Ceux des gènes codant pour Nav1.1, Nav1.2, Nav1.3 et Nav1.6 exprimés sur les nocicepteurs et/ou les nerfs sensitifs seraient éventuellement intéressants mais n'ont pas pu être réalisés pour des raisons de coûts.

Les échantillons où une mutation a été découverte pourront être utilisés lors d'expériences futures. Ils sont stockés après qu'une anonymisation de l'échantillon, au moyen des initiales du patient ainsi que de sa date de naissance, ait été réalisée. Ils seront conservés après extraction du DNA dans les locaux du laboratoire de recherche clinique du service d'anesthésiologie pendant 10 ans.

3. Expérience

L'expérience s'est déroulée en quatre étapes. Pour chaque test, il a été demandé au patient de fermer les yeux afin qu'il ne voie pas l'examineur réaliser le geste. Enfin, le test dans son intégralité a été réalisé sur chaque avant-bras sur une zone dite neutre (sans EMLA[®] ou placebo) et sur une zone dite crémée (avec EMLA[®] ou placebo).

3.1. Sensibilité mécanique

3.1.1 Sensibilité mécanique – fine

Le premier test réalisé a permis d'évaluer le seuil de sensibilité mécanique fine du patient au moyen de filaments de Von Frey. Ce sont des petits filaments de nylon se pliant à des pressions différentes. Le test comprend une partie où les filaments sont utilisés de façon à augmenter la force exercée graduellement jusqu'à ce que le volontaire ressente le stimulus.

La deuxième partie consiste à appliquer des forces en diminution jusqu'à ce que le volontaire ne ressente plus le stimulus. Comme précisé ci-dessus, le test a été réalisé sur chaque avant-bras et à chaque fois sur une zone neutre ainsi que sur une zone crémée.

Cela nous a permis d'objectiver une différence de seuil de détection de stimulus entre les deux avant-bras ainsi qu'entre les zones crémée et neutre et donc si l'EMLA[®] avait été efficace ou non. Dans le cas où l'EMLA[®] est efficace, nous observons une différence entre les deux seuils, à savoir : avant-bras gauche versus avant-bras droit et zone crémée versus zone neutre. A contrario, les seuils seront identiques ou proches dans le cas d'une résistance.

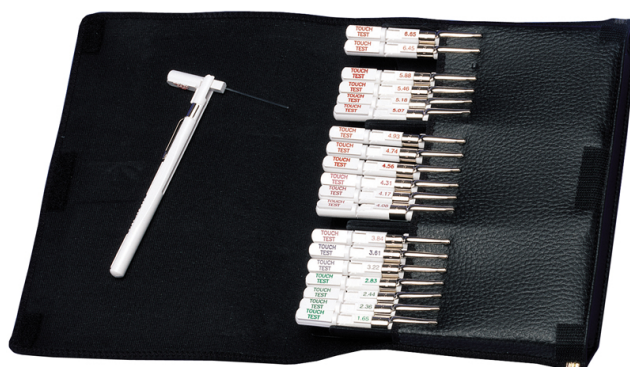


Fig. 5: Filaments Von Frey⁵

3.1.2 Sensibilité mécanique – tacto-algique

Pour ce faire, nous avons utilisé le test du toucher-piquer où le patient doit discriminer entre un toucher (au moyen de la partie ouatée d'un bâtonnet) et un piquer (au moyen de l'extrémité d'un bâtonnet brisé en deux). Comme les deux tests précédents, il a été réalisé au niveau des deux avant-bras ainsi que sur deux zones différentes. Si le patient est capable de nous dire si la stimulation était de modalité « toucher » ou « piquer » sans se tromper, cela signifie que l'anesthésie n'a pas pris. A l'inverse, si le patient n'arrive pas à discriminer ces deux modalités, cela signifie que l'EMLA[®] est efficace

⁵ <https://www.commercecorner.com/stoelting/stores/stoelting/categories/58011-L.jpg>



Fig. 6 : Piquer⁶



Fig. 7 : Toucher⁷

3.2 Sensibilité thermique

3.2.1 Sensibilité thermique nociceptive

Nous avons testé cette fonctionnalité via une sonde chaud-froid. Cette sonde délivre de façon automatique des stimuli thermiques. Elle peut délivrer des stimuli selon deux patterns avec des consignes au patient différentes selon la modalité testée: sensibilité au chaud (WD, pour warm detection), sensibilité au froid (CD pour cold detection), douleur au chaud (WP pour warm pain) et douleur au froid (CP pour cold pain). Pour tester la nociception, nous avons utilisé les patterns WP et CP. La sonde est apposée sur les avant-bras où les deux crèmes ont été appliquées au préalable. L'examineur lance le programme et demande au patient de cliquer sur la souris dès que le stimulus lui fait mal. Ces stimuli sont répétés trois fois pour la modalité "chaud" et trois fois pour la modalité "froid". Comme pour le test de la sensibilité mécanique, si l'EMLA[®] n'est pas efficace, les valeurs obtenues sur les deux avant-bras seront semblables tandis que si l'EMLA[®] est efficace, les valeurs seront différentes. Les valeurs seront plus hautes pour le WP et plus basses pour le CP sur l'avant-bras sur lequel l'EMLA[®] a été appliqué.

⁶ <http://moodle2.unil.ch/course/view.php?id=3885>

⁷ <http://moodle2.unil.ch/course/view.php?id=3885>



Fig 8 : Appareil pour la détection chaud – froid⁸

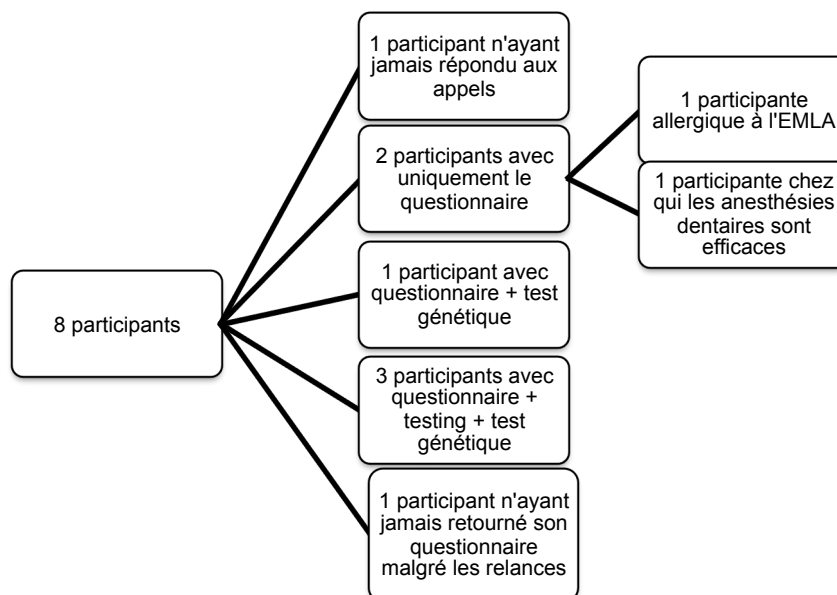
3.4.2 Sensibilité thermique sensitive

Le dernier test réalisé nous a permis de mettre en évidence si le patient était capable de discriminer les modalités « chaud » et « froid ». Pour ce faire, nous avons utilisé les patterns WD et CD de la sonde chaud-froid. Ces patterns vont envoyer quatre stimuli chauds et quatre froids. Le patient va devoir appuyer sur la souris lorsqu'il ressent le stimulus. Ce dernier test nous a aussi permis d'observer si les seuils de détection étaient semblables ou proches ce qui serait le cas si l'anesthésie est dysfonctionnelle chez notre patient. Si les seuils sont bien différents, cela montrerait que l'EMLA[®] a été efficace.

⁸ Image personnelle

4. Résultats

4.1 Sélection des volontaires



4.2 Participants aux tests

4.2.1 SR

Le questionnaire permet de mettre en évidence certains points pertinents pour notre expérience. En effet, le participant note que depuis 2009, les anesthésies locales chez le dentiste restent sans effet. Cela coïncide avec la mise en route du Remicade®, traitement qu'il reçoit dans le cadre de sa polyarthrite rhumatoïde. Après vérification dans le Compendium, la résistance à la lidocaïne ou une interaction avec cette molécule n'est pas répertoriée mais ne peut pas être exclue. Il pourrait s'agir d'un effet secondaire inconnu. On remarque également qu'il n'y a pas d'autres membres de sa famille qui rencontrent le même souci vis-à-vis de l'anesthésie.

4.2.2 LM

Chez ce participant, ce ne sont pas seulement les anesthésies locales dentaires qui ne fonctionnent pas ou peu mais également les autres tentatives d'anesthésie locale ayant eu lieu, notamment au niveau du genou. En effet, l'anesthésie locale du genou a dû être répétée trois fois et n'a pas fonctionné pour autant. Au niveau familial, nous pouvons noter que les anesthésies locales n'ont pas d'effet également chez son oncle qui souffre de fibromyalgie.

4.2.3 CVS

Chez ce participant, nous pouvons observer que l'anesthésie à une dose standard ne fonctionne pas. Si les doses sont augmentées, l'anesthésie fonctionne bien mais prend beaucoup de temps à se réveiller. La présence d'une anamnèse familiale positive pour une résistance à l'anesthésie générale et locale chez la mère et la grand-mère de ce participant tend à augmenter la probabilité qu'une mutation génétique se cache sous cette résistance. Notons que ce participant présente des résistances à d'autres médicaments tels le Sintrom® pour lequel il nécessite des doses de 6 mg pour rester dans un INR thérapeutique ainsi qu'à plusieurs antibiotiques.

4.2.4 OP

Chez ce participant, ce sont surtout les anesthésies locales dentaires qui ne fonctionnent pas. L'anesthésie dentaire ne prend pas malgré que l'anesthésie soit répétée plusieurs fois et aucune alternative n'a été trouvée, mis à part le passage en chirurgie maxillo-faciale. On retrouve également une notion de résistance à des médicaments, le Dismenol® et le Spedifen®. Néanmoins, on ne retrouve pas d'anamnèse familiale positive chez ce participant.

4.2.5 MJ

Ce participant présente une résistance à l'anesthésie locale dentaire avec une anesthésie inefficace même après plusieurs doses de lidocaïne et une sensation de malaise avec notion d'allergie à cette molécule, raison pour laquelle ce participant n'a pas pris part aux tests. Nous pouvons remarquer également l'absence d'anamnèse familiale positive pour des cas de résistance. Cela n'exclut pas la présence d'une mutation de novo qui ne se retrouve pas chez d'autres membres de sa famille.

4.2.6 CB

Dans ce cas également, ce sont les anesthésies locales qui ont peu ou pas fonctionné tandis que les anesthésies générales se sont bien déroulées. D'après le participant, les anesthésies locales font effet rapidement mais ne durent pas très longtemps. Devant ce tableau ne parlant que peu pour une résistance, nous avons décidé de ne pas inclure le participant dans la partie de tests sensitifs et dans le test génétique.

4.3 Résultats de l'expérience

4.3.1 Sensibilité mécanique fine

Au moyen de ce test, nous avons pu obtenir un seuil de détection (DT) et un seuil de disparition (MT).

Sur les graphiques ci-dessous, nous pouvons observer que pour le DT, il n'y a pas de grande différence chez deux des participants que ce soit entre les deux avant-bras ou au sein du même avant-bras entre la zone crémée et la zone dite neutre. Cela pourrait signifier que l'anesthésique local n'a pas eu d'effet chez ces patients. En effet, s'il avait été efficace, on aurait noté une différence entre les deux avant-bras. Le DT aurait été plus élevé sur l'avant-bras où l'EMLA[®] a été appliqué. Nous pouvons observer ce phénomène chez l'un des participants, CVS, qui a un DT au niveau de la zone avec EMLA[®] plus élevé que le DT du même avant-bras au niveau de la zone hors EMLA[®] ainsi que les DT de l'autre l'avant-bras.

Concernant le MT, nous pouvons observer qu'il n'y a pas de différence entre les deux avant-bras chez SR et LM alors que chez CVS, le MT de l'avant-bras avec EMLA[®] est plus élevé que les autres. Cela peut signifier que l'anesthésique local a fonctionné. A noter que chez LM, lors de l'utilisation des filaments de Von Frey les plus fins, nous n'étions plus sûrs que c'était effectivement la pression exercée par les filaments qu'il ressentait dû à sa pilosité. Il n'arrivait pas à dire s'il sentait la pression du filament ou juste le fait que le filament touchait ses poils.

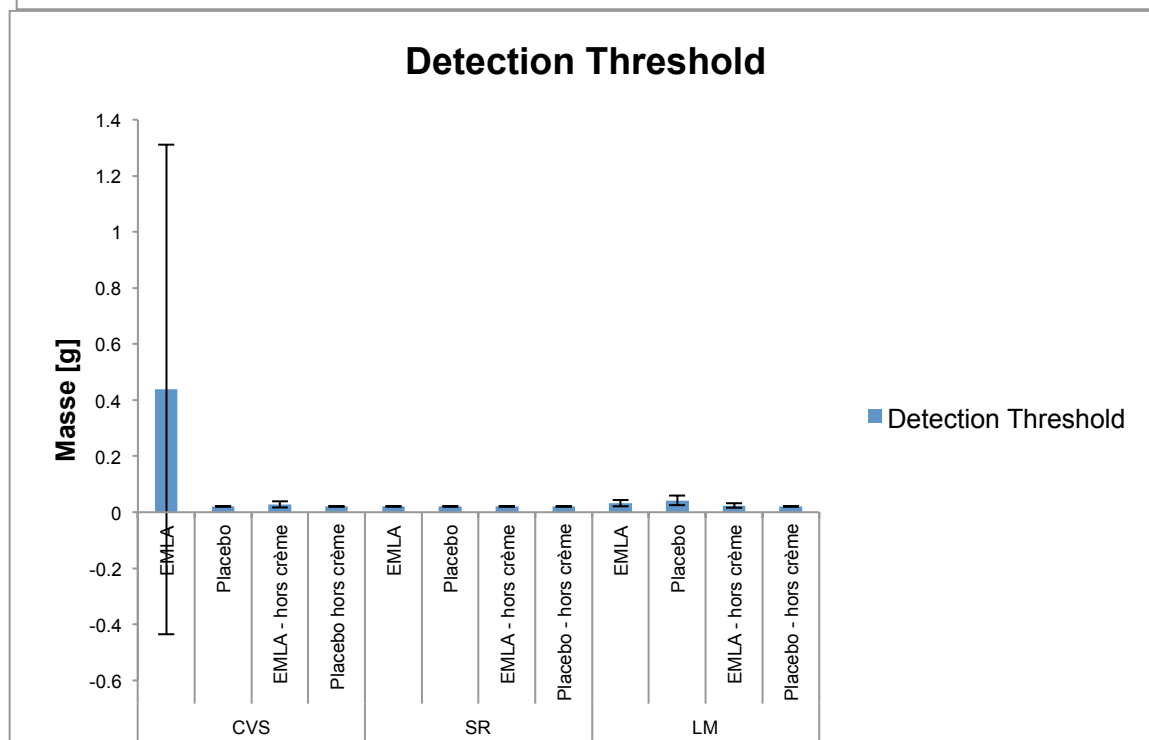
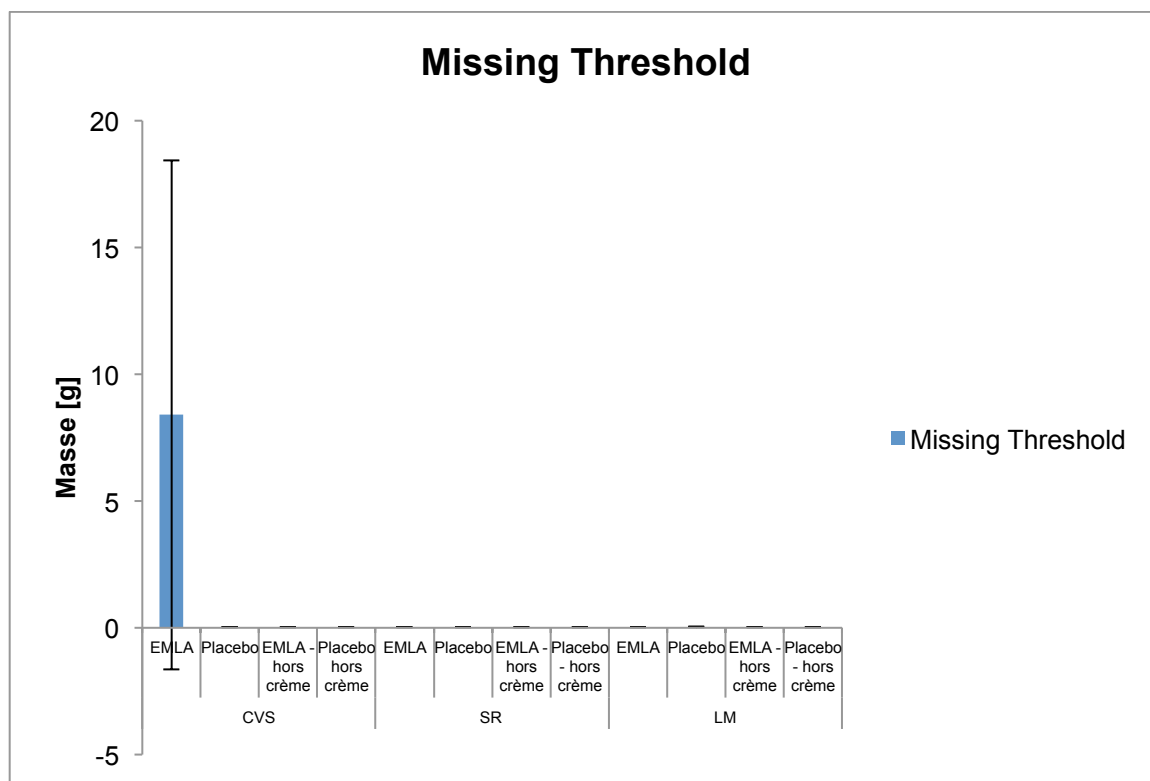
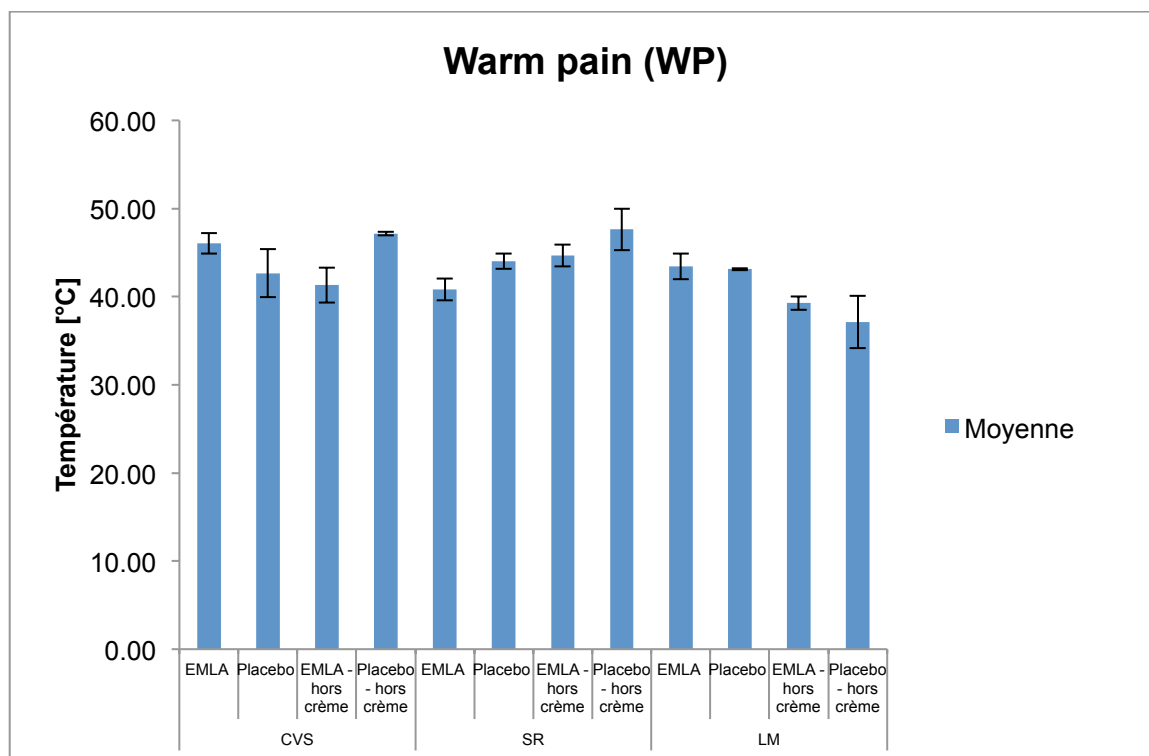


Fig 9 et 10 – Graphiques représentant les DT et MT de chaque participant

4.3.2 Sensibilité thermique nociceptive

Au moyen de la sonde chaud-froid, nous avons pu obtenir quatre seuils différents. Deux nous intéressent concernant la sensibilité nociceptive: le seuil de douleur au froid (CP) et le seuil de douleur au chaud (WP). Pour le CP, nous pouvons observer que chez deux participants, les seuils atteints sont différents, non seulement entre les deux zones testées sur chaque avant-bras, mais également entre les deux avant-bras.

Concernant le WP, nous pouvons observer que les valeurs entre les zones crémées et neutres du même avant-bras sont assez proches. Chez CVS, on remarque une augmentation de la moyenne au niveau de la zone avec EMLA® ce qui correspond à l'effet de l'anesthésique local. Dans le cas de SR, le WP moyen est abaissé au niveau des zones avec EMLA® et avec placebo. Cela peut signifier une inefficacité de l'anesthésique local. Néanmoins, ce participant avait noté que les zones crémées étaient plus froides que le reste de l'avant-bras ce qui a pu augmenter la sensibilité aux stimuli chauds. Chez le troisième participant, nous avons le même phénomène au niveau des deux avant-bras. L'efficacité de l'anesthésique local ne suffit pas à expliquer cela. En effet, l'anesthésique n'ayant été appliqué que d'un côté, l'augmentation du WP moyen ne peut être imputée uniquement à l'anesthésique.



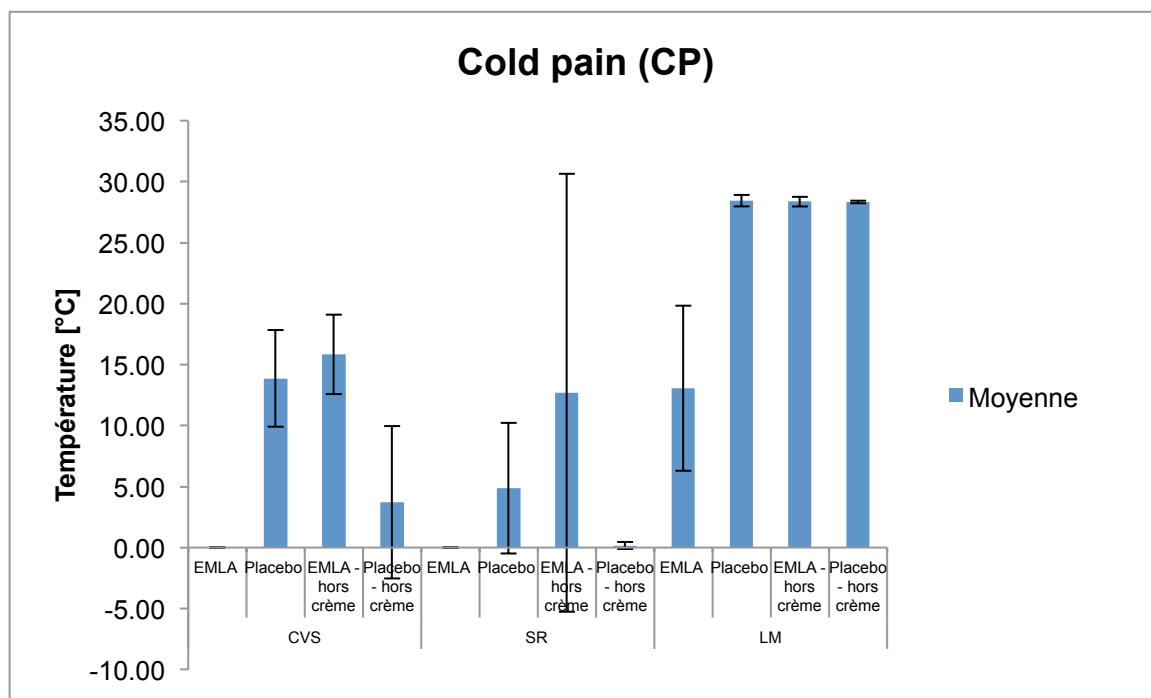


Fig 11 et 12 – Graphiques représentant les seuils de détection de douleur au chaud et au froid chez chaque participant. Pour chaque seuil, il y a deux valeurs pour chaque avant-bras (zone crémée et zone neutre)

4.3.3 Sensibilité tacto-algique

Les valeurs pour cette modalité ont été obtenues au moyen du test du toucher-piquer. En regardant le graphique, nous pouvons constater que pour SR tous les stimuli toucher et piquer ont été ressentis de façon correcte. Pour les deux autres participants, il y a eu un stimulus « piquer » qui n'a pas été ou qui a mal été ressenti. Ce stimulus a été appliqué dans un cas au niveau de la zone avec EMLA et dans l'autre cas dans la zone avec placebo. Un bon fonctionnement de l'anesthésique local peut donc expliquer cette différence mais pas entièrement. En effet, le placebo ne comportant pas de principe actif, il n'aurait pas dû bloquer la détection du stimulus.

En effet, si cela provenait uniquement de l'anesthésique local, ce devrait être l'intégralité des stimuli appliqués sur cette zone qui auraient dû être mal ou non ressentis. Or, les autres stimuli ont été ressentis de façon correcte. Une autre explication peut provenir du fait que l'application des stimuli n'était pas constante au niveau de la pression exercée et cela a pu perturber le bon déroulement du test.

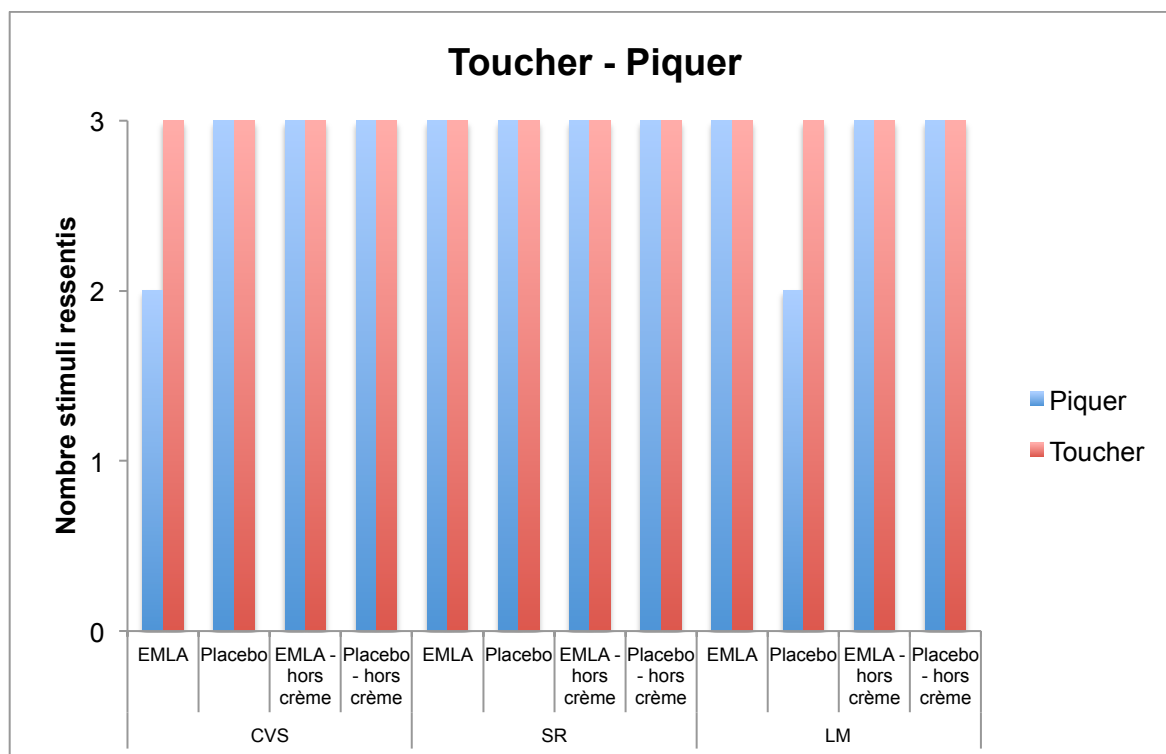


Fig 13 – Réponses correctes des participants aux stimuli « toucher » et « piquer » appliqués sur chaque avant-bras à chaque fois sur une zone neutre et une zone crémée

4.3.4 Sensibilité thermique sensitive

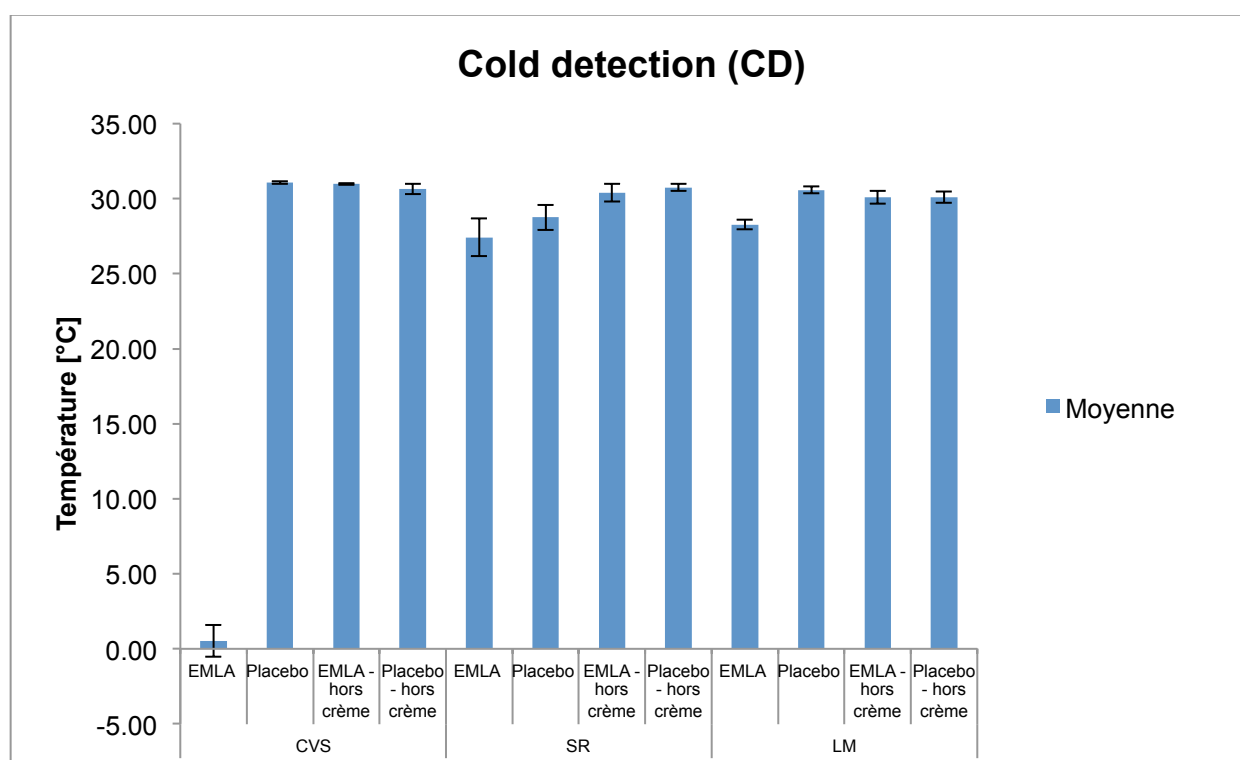
Les seuils obtenus pour cette sensibilité sont issus de la deuxième partie du test réalisé au moyen de la sonde chaud-froid. Ils concernent la détection au froid (CD) et la détection au chaud (WD).

Nous pouvons remarquer que deux participants ont des CD sans ou avec très peu de variation entre les deux avant-bras alors que le troisième a une différence significative au niveau de l'avant-bras droit entre les deux CD (30°C versus 0°C). Cela peut s'expliquer par le fait que le CD de 0°C est celui de la zone avec l'EMLA®. L'anesthésique ayant été efficace, cela peut expliquer cette différence entre les deux seuils.

Pour le WD, les choses se corsent. En effet, les seuils varient beaucoup plus que ce soit entre les deux avant-bras mais aussi au sein du même avant-bras. Seul un participant a des seuils qui diffèrent légèrement. Chez les deux autres, nous pouvons observer que les WD au niveau des zones avec EMLA® et placebo sont plus élevés (au niveau des deux avant-bras pour l'un des participants et au niveau d'un seul avant-bras pour l'autre).

Cela peut être expliqué par le fait que l'anesthésique local a été efficace et a bloqué les fibres sensibles thermiques mais pas uniquement. En effet, chez un des participants, nous pouvons voir que les seuils sont plus élevés au niveau des zones crémées des deux avant-bras.

Comme le placebo ne comporte pas de principe actif, un autre élément a dû perturber le test et élever ce seuil. Les participants ont noté qu'une des deux crèmes laissait la zone d'application plus froide que l'autre. Cela aurait pu fausser la perception des stimuli mais ce n'est pas vérifiable.



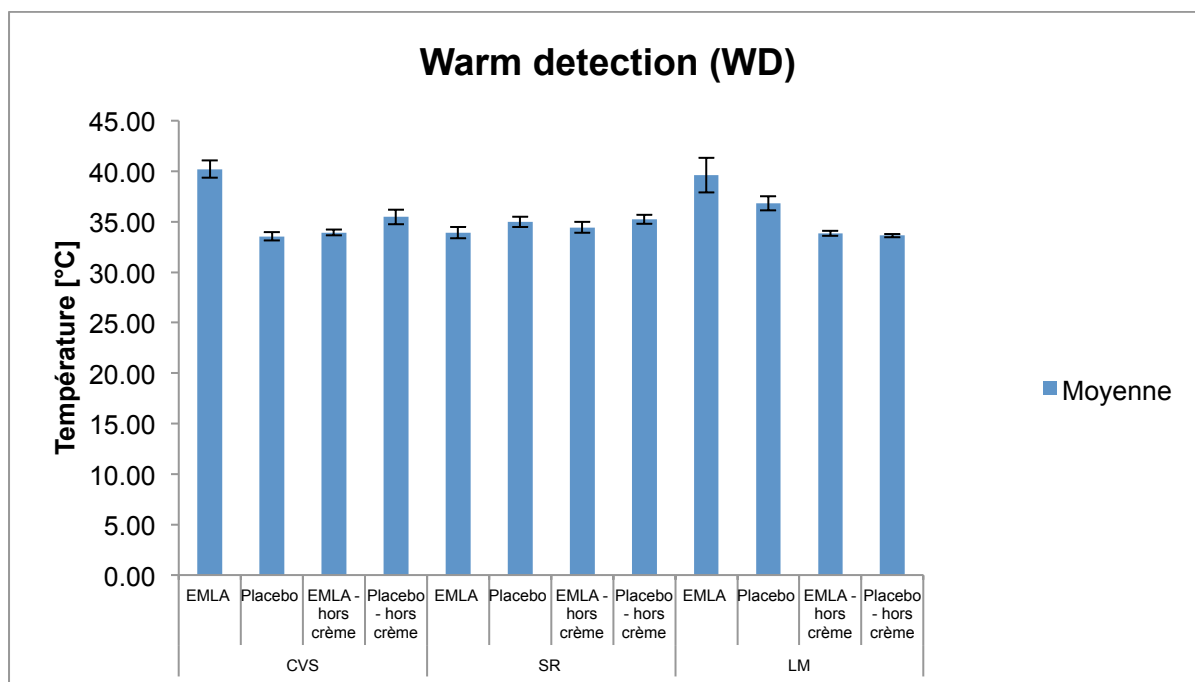


Fig 14 et 15 – Graphiques représentant les seuils de détection à la chaleur (WD) et au froid (CD). Pour chaque participant, nous avons quatre seuils (zone crémée et zone neutre pour les deux avant-bras)

4.4 Test génétique

Pour chaque participant où les tests sensitifs ont été réalisés, un test génétique a été effectué afin de pouvoir objectiver la présence ou non d'une mutation au niveau du canal sodique. Malheureusement, un retard au niveau de l'analyse génétique ne permet pas d'inclure les résultats du génotypage dans le document présent. Les résultats seront disponibles début 2016.

5. Discussion

L'expérience a permis de mettre en évidence chez certains participants, notamment SR et LM, une absence d'efficacité de l'EMLA®.

Néanmoins, nous pouvons observer des faiblesses concernant cette expérience. En effet, certaines modalités sensorielles telles que le WPT ou le toucher-piquer ont des résultats qui ne sont pas en adéquation avec les autres. Dans le cas du participant LM par exemple, les résultats des tests parlent en faveur d'une inefficacité de l'anesthésique local alors que les données obtenues pour le WPT suggèrent le contraire. Cela peut être expliqué par le fait que la lidocaïne ne couvrirait que les fibres nerveuses responsables de la détection de la douleur au chaud.

En effet, selon les expériences décrites dans l'article de Krumova, « Abeta-fiber function is represented by the mechanical detection of von Frey hairs and vibration, Adelta-fiber function by cold detection and the MPT for pinprick stimuli, and C-fiber function by warm detection »⁹, la lidocaïne ne bloquerait que partiellement les fibres Adelta et C ce qui pourrait expliquer que le WPT ne soit pas dans la même ligne que les autres résultats. Les différents types de canaux sodiques ne sont pas présents de manière identique sur les différentes classes de fibres, ce qui peut aussi expliquer un effet différentiel selon la modalité testée.

D'une façon plus générale, cette expérience comporte des biais. L'un d'eux concerne la quantité d'EMLA[®] appliquée sur l'avant-bras. Comme nous n'avons pas utilisé de mesurette, il se peut que certains volontaires aient reçu plus d'EMLA[®] que d'autres ou que son application ait été inhomogène malgré un étalement soigneux. Cela a pu avoir des répercussions sur les résultats des tests comme par exemple une inefficacité de la lidocaïne non pas due à une résistance mais à une quantité trop faible du produit. Cela pourrait être amélioré en employant des monodoses d'EMLA[®] et de placebo ce qui uniformiserait les doses appliquées à chaque participant.

Un autre biais possible concerne l'examineur et plus particulièrement la constance des stimuli avec les filaments de Von Frey et les toucher-piquer. En effet, il est difficile d'assurer que ces stimuli soient délivrés avec la même intensité à chaque reprise. Concernant les filaments de Von Frey, nous pourrions utiliser la version électronique qui nous donne la force appliquée exacte. Cependant, la pointe de cet appareil laisse une trace au niveau de la peau car elle est trop pointue. La sensation devient trop désagréable pour le patient lorsque l'intensité du stimulus augmente.

Le test via la sonde chaud-froid lui aussi peut apporter un biais. D'après les différents retours des participants, il apparaît qu'il leur était difficile de dire exactement quand le stimulus délivré devenait douloureux. De plus, ils n'avaient pas l'impression que leur peau avait le temps de retrouver sa température basale entre deux stimuli. Il était difficile pour eux également de bien sentir le stimulus suivant. En analysant les résultats, on peut remarquer une grande variabilité dans le test CPT. Cette variabilité est aussi présente dans les valeurs normatives pour cette modalité.¹⁰

⁹ Krumova EK, Zeller M, Westermann A et al. Lidocaine patch (5%) produces a selective, but incomplete block of A δ and C fibers. Pain. 2012;153:273-280

¹⁰ Rolke R, Magerl W, Andrews Campbell K et al. Quantitative sensory testing: a comprehensive protocol for clinical trials. Eur J Pain. 2006 Jan;10(1):77-88

Cette expérience n'a été réalisée sur quatre participants seulement. Cela a pu également limiter les résultats positifs de l'expérience. Cette étude sera poursuivie dans le futur, pour pouvoir enrôler plus de candidats en incluant des patients sur plusieurs années, sachant que les cas sont rares.

Il pourrait également être intéressant de réfléchir à l'utilisation de la lidocaïne en topique ou considérer un changement au niveau de la voie d'administration de la molécule. En effet, cela pourrait permettre éventuellement d'avoir une meilleure couverture des fibres nerveuses avec une administration de lidocaïne intradermique. Une comparaison entre les résultats de l'étude avec lidocaïne topique versus lidocaïne intradermique serait alors possible.

6. Conclusion

Le génotypage n'ayant pu être inclus dans le document présent (encore en cours), nous ne pouvons pas tirer de conclusion sur l'étude pour l'instant. Il faut pouvoir corréliser les résultats des tests sensitifs aux résultats génétiques afin de pouvoir analyser si une mutation est reliée à la résistance aux anesthésiques locaux et plus particulièrement à la lidocaïne.

7. Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon tuteur, le Dr Marc Suter, pour son aide et sa disponibilité tout au long du Travail de Master ainsi que le Dr Christian Wider qui a eu la gentillesse d'accepter d'être mon expert. Mes remerciements s'adressent également au Dr Zahurul Bhuiyan qui a réalisé les analyses génétiques nécessaires à mon travail. Je profite également de remercier tous les participants qui ont pris le temps de prendre part à cette étude ainsi qu'à Françoise Pérez, Kilian Rothenbühler ainsi que Raphaël Jenelten qui m'ont aidée à relire et corriger ce travail. Finalement, je tiens à remercier également toutes les personnes que j'aurais oublié de citer et qui ont pris part, de près ou de loin, à ce travail.

8. Bibliographie

Livres:

1. Albrecht E, Haberer JP, Buchser E, Moret V, Editors. Manuel pratique d'anesthésie. 2nd ed, Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2009
2. Stoelting RK, Miller RD, Editors. Basics of anesthesia. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2006

Articles:

1. Sheets PL, Jackson JO, Waxman SG, Dib-Hajj SD, Cummins TR. A Nav1.7 channel mutation associated with hereditary erythromelgia contributes to neuronal hyperexcitability and displays reduced lidocaine sensitivity. J Physiol. 15 juin 2007;581(Pt 3):1019-31.
2. Panigel J, Cook SP. A Point Mutation at F1737 of the Human Nav1.7 Sodium Channel Decreases Inhibition by Local Anesthetics. Journal of Neurogenetics. 1 déc 2011;25(4):134-9.
3. Wang S-Y, Mitchell J, Moczydlowski E, Wang GK. Block of Inactivation-deficient Na⁺ Channels by Local Anesthetics in Stably Transfected Mammalian Cells. J Gen Physiol. déc 2004;124(6):691-701.
4. Chevrier P, Vijayaragavan K, Chahine M. Differential modulation of Nav1.7 and Nav1.8 peripheral nerve sodium channels by the local anesthetic lidocaine. British Journal of Pharmacology. 1 juin 2004;142(3):576-84.
5. Nau C, Wang GK. Interactions of Local Anesthetics with Voltage-gated Na⁺ Channels. J Membrane Biol. sept 2004;201(1):1-8.
6. Sheets PL, Jarecki BW, Cummins TR. Lidocaine reduces the transition to slow inactivation in Nav1.7 voltage-gated sodium channels. Br J Pharmacol. sept 2011;164(2b):719-30.
7. Sugimoto M, Uchida I, Mashimo T. Local anaesthetics have different mechanisms and sites of action at the recombinant N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors. Br J Pharmacol. mars 2003;138(5):876-82.
8. Jin L, Qin C, Lan L, Sun J, Zeng F, Zhu Y, et al. Local Anesthesia at ST36 to Reveal Responding Brain Areas to deqi. Evid Based Complement Alternat Med [Internet]. 2014

[cité 21 déc 2015];2014.

9. Ueno T, Tsuchiya H, Mizogami M, Takakura K. Local anesthetic failure associated with inflammation: verification of the acidosis mechanism and the hypothetic participation of inflammatory peroxynitrite. *J Inflamm Res.* 13 nov 2008;1:41-8.
10. Am T. Local anesthetic « resistance ». *Pain Physician.* juill 2003;6(3):291-3.
11. Balser JR, Nuss HB, Orias DW, Johns DC, Marban E, Tomaselli GF, et al. Local anesthetics as effectors of allosteric gating. Lidocaine effects on inactivation-deficient rat skeletal muscle Na channels. *J Clin Invest.* 15 déc 1996;98(12):2874-86.
12. Kambouris NG, Hastings LA, Stepanovic S, Marban E, Tomaselli GF, Balser JR. Mechanistic link between lidocaine block and inactivation probed by outer pore mutations in the rat $\mu 1$ skeletal muscle sodium channel. *J Physiol.* 1 nov 1998;512(Pt 3):693-705.
13. Sheets MF, Hanck DA. Molecular Action of Lidocaine on the Voltage Sensors of Sodium Channels. *J Gen Physiol.* févr 2003;121(2):163-75.
14. Butterworth JF, Strichartz GR. Molecular Mechanisms of Local AnesthesiaA Review. *Anesthesiology.* 1 avr 1990;72(4):711-34.
15. Low SE, Zhou W, Choong X, Saint-Amant L, Sprague SM, Hirata H, et al. Nav1.6a is required for normal activation of motor circuits normally excited by tactile stimulation. *Dev Neurobiol.* juin 2010;70(7):508-22.
16. Rolke R, Magerl W, Campbell KA, Schalber C, Caspari S, Birklein F, et al. Quantitative sensory testing: a comprehensive protocol for clinical trials. *European Journal of Pain.* 1 janv 2006;10(1):77-77.
17. von Stein RT, Soderlund DM. Role of the Local Anesthetic Receptor in the State-Dependent Inhibition of Voltage-Gated Sodium Channels by the Insecticide Metaflumizone. *Mol Pharmacol.* mars 2012;81(3):366-74.
18. Lampert A, O'Reilly AO, Reeh P, Leffler A. Sodium channelopathies and pain. *Pflugers Arch - Eur J Physiol.* 26 janv 2010;460(2):249-63.
19. Drenjančević-Perić I, Haršanji Drenjančević I, Ivić D, Šakić-Zdravčević K. Sodium channels and nociception – the effects of local anesthetics. *Periodicum biologorum.* 15 juin 2009;111(2):215-8.
20. Marban E, Yamagishi T, Tomaselli GF. Structure and function of voltage-gated sodium channels. *J Physiol.* 1 mai 1998;508(Pt 3):647-57.

21. Folkers E, Waddell S, Quinn WG. The *Drosophila* radish gene encodes a protein required for anesthesia-resistant memory. PNAS. 14 nov 2006;103(46):17496-500.
22. Cummins TR, Sheets PL, Waxman SG. The roles of sodium channels in nociception: implications for mechanisms of pain. Pain. oct 2007;131(3):243-57.
23. Zhou W, Goldin AL. Use-Dependent Potentiation of the Nav1.6 Sodium Channel. Biophys J. déc 2004;87(6):3862-72.
24. Laedermann CJ, Syam N, Pertin M, Decosterd I, Abriel H. β 1- and β 3- voltage-gated sodium channel subunits modulate cell surface expression and glycosylation of Nav1.7 in HEK293 cells. Front Cell Neurosci [Internet]. 30 août 2013;7

Sites internet:

1. <http://channelpedia.epfl.ch/ionchannels/189>
2. http://www.uvp5.univ-paris5.fr/wikinu/docvideos/Grenoble_1011/ribuot_christophe/ribuot_christophe_p18/ribuot_christophe_p18.pdf